Ueber die

quantitative Bestimmung und Trennung

der

Cacao-Alkaloide.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doctorwürde

vorgelegt der

Hohen philosophischen Facultät der Universität Basel

von

William E. Kunze,

Apotheker aus Dresden.

Aus dem hygienisch-chemischen Laboratorium des Königl. Friedrich-Wilhelms-Instituts zu Berlin.

Wiesbaden.

C. W. Kreidel's Verlag.

1893.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543921_0157

Gruppirung des Stoffes.

Einleitung. Uebersicht über die einschlägige Litteratur. (Eigenschaften, Darstellung und Umsetzungsproducte des Theobromins.)

Hauptheil. **Quantitative Bestimmung und Trennung der Cacao-Alkaloide.**

Allgemeines.

I. Die bisher gebräuchlichen Methoden der Theobrominbestimmung.

1. Uebersicht.
2. Kurze Kritik derselben.
3. Vergleichende Zusammenstellung der nach ihnen bei eigener Nachprüfung erhaltenen Resultate.

II. Aufgabe und Methodik einer rationellen Alkaloidbestimmung.

1. Nothwendigkeit, die Gesammtalkoloide zu bestimmen und das Theobromin daraus zu isoliren.
2. Einfluss des Cacaofettes auf die Bestimmung.
3. Extractions- und Fällungsmethoden.
4. Art der Bestimmung.
5. Beweis der Zuverlässigkeit des Verfahrens.

III. Eigene methodische Versuche.

1. Bestimmung der Gesammtalkaloide.
2. Trennung derselben.

Zusammenfassung der Resultate und Schluss.

Das Theobromin wurde 1840 von Woskresensky[1]) entdeckt, nachdem schon durch frühere Untersuchungen ein bitterer Stoff im Cacao zwar nachgewiesen, aber noch nicht isolirt worden war. Er erhielt es durch Extraction von Cacaobohnen mit destillirtem Wasser auf dem Wasserbad, Fällung des Gerb- und Farbstoffs mit basischem Bleiacetat, Filtration, Entfernung des überschüssig zugesetzten Bleis durch Schwefelwasserstoff, Verdampfen und Umkrystallisiren aus Alkohol. Er beschreibt dasselbe als luftbeständig, bei 100° C. 0,81 % Wasser verlierend,[2]) scheint aber unreines Material unter den Händen gehabt zu haben, da er weiterhin angibt, dass das Theobromin bei 250° beginne braun zu werden und bei höherer Temperatur unter Bildung eines krystallinischen Sublimats und Hinterlassung von etwas Kohle sich verflüchtige. Er übergeht die Löslichkeitsverhältnisse und gibt weiterhin nur an, dass Säuren und Alkalien das Theobromin weder zersetzen, noch Verbindungen mit ihm eingehen, ausgenommen Gerbsäure, welche einen im Ueberschuss, sowie in Alkohol und selbst in heissem Wasser löslichen Niederschlag gebe. Quecksilberchlorid erzeuge eine weisse, krystallinische, in Wasser und Alkohol schwer lösliche Fällung. — Er gibt dem neuen Körper die Formel $C_9H_{10}N_6O_2$.

Mitscherlich[3]) bemerkt zu der Woskresensky'schen Methode der Theobromindarstellung, dass dieselbe durch die gleich anfangs eintretende Verkleisterung der Cacaostärke erschwert werde, und schlägt folgendes Verfahren ein: Er kocht entweder entölte Cacaomasse oder auch Cacaostaub mit schwefelsäurehaltigem Wasser (die genaueren An-

---

1) Liebig's Annalen **41**, 125.

2) Der Wassergehalt von 0,81 % scheint ein zufälliger gewesen zu sein und steht in keinem molecularen Verhältniss zur Formel des Theobromins. Andere Autoren erklären das Theobromin für wasserfrei.

3) A. Mitscherlich, „Der Cacao und die Chocolade", Berlin 1859, S. 72.

gaben siehe l. c.) bis zur vollständigen Ueberführung der Stärke in Zucker, verdünnt, setzt in Wasser suspendirtes kohlensaures Bleioxyd zu, filtrirt ab und wäscht aus. Zur Entfernung des Zuckers empfiehlt er sodann durch Zusatz von Bierhefe in der schwach sauren Flüssigkeit einen Gährungsprocess einzuleiten, nach Beendigung desselben die Lösung zu neutralisiren, zu filtriren und einzudampfen. Aus dem Abdampfrückstand erhält er durch mehrmaliges Lösen in heisser Salpetersäure und Fällen mit Ammoniak das Theobromin, und zwar aus den geschälten Samen der Guayaquil-Bohnen 1,5 %, aus den Schalen gegen 1 %. Uebereinstimmend mit Woskresensky gibt er einen Wassergehalt von 0,81 % an[1]), der durch Trocknen bei 100° bestimmt werden könne. — Die weiteren Angaben, die Mitscherlich über das chemische Verhalten des Theobromins macht, sind theils den Arbeiten anderer Autoren entlehnt, theils auch von nntergeordnetem Interesse und können daher hier füglich übergangen werden.

Keller[2]) constatirt in einer »Ueber das wahre Theobromin« betitelten Notiz, dass das durch Erhitzen erhaltene Sublimat aus unverändertem Theobromin bestehe. Er findet bei der Analyse folgende Zahlen:

C	= 46,23	46,33 %
H	= 4,73	4,88 «
N	= 31,03	30,89 «

(Woskresensky hatte den Stickstoffgehalt bedeutend höher, zu 35,38 % gefunden) und gelangt dadurch zur Formel $C_7H_8N_4O_2$.[3])

Glasson[4]) gibt an, dass man Theobromin durch Lösen in concentrirter Salzsäure, Krystallisiren lassen, Zersetzung mit verdünntem Ammoniak und Auswaschen mit Wasser vollkommen rein erhalten könne; die empirische Formel ermittelt er = $C_{14}H_8N_4O_4$ [C = 46,67 %
H = 4,44 «
N = 31,11 «
O = 17,78 «].

Er beschreibt weiter Verbindungen des Theobromins mit Säuren (Salzsäure, Salpetersäure), Basen (Barytwasser) und Metallsalzen (Silber-

---

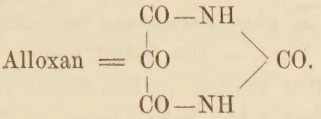
[1]) Vergl. die Anmerkung auf Seite 5.

[2]) Liebig's Annalen **92**, 72 ff.

[3]) Die Keller'sche Analyse ist sowohl bei Mitscherlich wie bei Trojanowski unrichtig angegeben. Augenscheinlich sind die Zahlen mit denen der theoretischen Berechnung verwechselt worden.

[4]) Liebig's Annalen **61**, 335.

nitrat, Platinchlorid) und erhält bei der Behandlung mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure und nachherigem Eindampfen mit Magnesiumoxyd einen Körper, den er für identisch mit Alloxan hält.



Glasson weist bereits auf die nahen Beziehungen des Theobromins und Coffeïns hin, indem er bemerkt, dass sich ersteres durch ein Minus von C_2H_2 von ersterem unterscheide (Stenhouse's Coffeïnformel $C_{16}H_{10}N_4O_4$).

Von älteren Arbeiten wäre noch eine Studie von Rochleder[1]) zu erwähnen. Derselbe erhält durch Oxydation vermittelst einer Grove'schen Säule von 9 Elementen einen Körper von der Zusammensetzung $C_{12}H_8N_2O_{16}$; durch Behandlung mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure aber einen amorphen Stoff von der Formel $C_{12}H_{13}N_3O_{12}$, dessen Lösung mit Platinchlorid sogleich einen starken Niederschlag von Platinsalmiak gab. Auf Grund dieser Reaction glaubt er, diesen letzteren Körper als die Ammonium-Verbindung eines Oxy-Alloxan- oder Inosinsäure-Derivats ansprechen zu können.

An diese ältere, nur des historischen Interesses und der Vollständigkeit halber erwähnte Litteratur schliessen sich einige Publikationen jüngeren Datums an, zunächst eine Arbeit von Schmidt und Pressler[2]).

Die Verfasser schreiben zur Darstellung des Theobromins wiederholte Extraction eines Gemisches von entölter Cacaomasse und deren halbem Gewichte frisch bereiteten Calciumhydroxyds mit kochendem, 80procentigen Alkohol am Rückflusskühler und Auskrystallisirenlassen des Filtrats — nach Entfernung des Alkohols durch Destillation — vor. Das so dargestellte Theobromin soll — im Gegensatz zu den Angaben von Woskresensky und Mitscherlich — kein Krystallwasser enthalten und bei 290° ohne Zersetzung und ohne zu schmelzen sublimiren. Durch Zusammenbringen mit starken Säuren in mässiger Wärme und Krystallisation über Aetzkalk erhielten sie wohl charakterisirte, meist gut krystallisirende, sauer reagirende Salze von geringer Beständigkeit, welche schon bei Berührung mit Wasser oder Alkohol zersetzt werden.

---

1) „Ueber die Oxydationsproducte des Theobromins". Liebig's Annalen **79**, 124.

2) „Zur Kenntniss des Theobromins". Liebig's Annalen **217**, 270 ff.

Salze flüchtiger Säuren zerfallen beim Erwärmen auf 100°. Die Verbindungen mit Platin- und Goldchlorid können ebenfalls durch Krystallisation ihrer Lösungen erhalten werden, die erstere scheint ziemlich beständig zu sein, da sie ohne Zersetzung aus salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisirt werden kann. — Das Sulfat konnte nicht von constanter Zusammensetzung erhalten werden. — Das Nitrat verliert bei 100° den grössten Theil, das Acetat schon beim Liegen an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur seinen ganzen Gehalt an Säure.

Schmidt ist es auch gewesen, der mit Bestimmtheit nachgewiesen hat, dass der bei der Darstellung des Theobromins aus den letzten Mutterlaugen in langen nadelförmigen Krystallen sich abscheidende Körper Coffeïn und mit dem von James Bell[1]) aufgefundenen und näher beschriebenen »theïnähnlichen Alkaloid« identisch sei.

Strecker[2]) hat die chemischen Beziehungen zwischen Guanin, Xanthin, Theobromin, Coffeïn und Kreatinin untersucht und gelegentlich die wichtige Verbindung des Theobromins mit Silber eingehend beschrieben. Er gibt an, dass Silbernitrat mit Theobromin einen krystallinischen Niederschlag, aus Theobromin + $AgNO_3$ bestehend, gebe; in ammoniakalischer Lösung entsteht zunächst eine gallertartige Fällung, die von warmem Ammoniak ziemlich leicht gelöst wird; beim Kochen der Flüssigkeit fällt dagegen körnig-krystallinisches, in Wasser fast unlösliches Theobrominsilber aus. Dasselbe ist bis 160° beständig und zerfällt bei stärkerem Erhitzen unter Entwickelung von Dämpfen theilweise reinen Theobromins. — Durch 24stündiges Erhitzen der Silberverbindung mit Jodmethyl entsteht Coffeïn, welches durch kochenden Alkohol ausgezogen werden kann. Eine verdünnte Lösung von Coffeïn reagirt nicht mit Silbernitrat, auch nicht auf Zusatz von Ammoniak.

E. Fischer[3]) hat im Anschluss an eine Untersuchung des Coffeïns auch die Bromverbindung des Theobromins dargestellt und sie durch directes Zusammenbringen von Theobromin mit der fünffachen Menge Broms und nachheriges Zersetzen des anfänglich gebildeten Additionsproductes vermittelst schwefliger Säure erhalten. Er beschreibt sie als weissen, krystallinischen, bei 310° schmelzenden und ohne Zersetzung

---

[1]) James Bell, Analyse und Verfälschung der Nahrungsmittel, übersetzt von Mirus, Berlin 1882, S. 85 u. 86.

[2]) Liebig's Annalen **118**, 151.

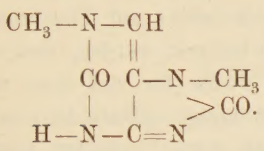
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin 1881, **14**, 644.

sublimirbaren Körper von saurem Character, mit Alkalien leicht Salze bildend und aus diesen durch Säuren unverändert abscheidbar.

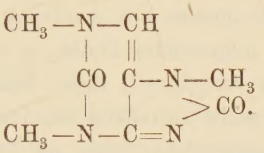
Maly-Hinteregger[1]) haben durch Oxydation von Theobromin mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure Monomethylparabansäure erhalten.

Die Constitutionsformel des Theobromins, welche dasselbe als Dimethylxanthin charakterisirt, hat E. Fischer aufgestellt:

Theobromin:



Coffeïn:



Derselbe hat auch, wie schon früher Strecker, durch Ueberführung des Theobrominsilbers in Coffeïn vermittelst Jodmethyl die nahen verwandtschaftlichen Beziehungen beider Körper klargestellt.

Zur Darstellung des Theobromins schlägt Dragendorff[2]) die Benutzung der Cacaoschalen vor. Er lässt dieselben mit Wasser auskochen, mit Bleiessig fällen und das Filtrat nach Neutralisation mit Schwefelsäure mit Magnesiumoxyd zur Trockne bringen. Der gepulverte Rückstand wird schliesslich mit Weingeist ausgekocht. Aus 4—5 kg Cacaoschalen erhält er auf diese Weise 13,5 *g* fast aschefreien Theobromins.

Trojanowski[3]) hat die Methoden der Theobromindarstellung nach Mitscherlich und Woskresensky controlirt und kommt zu dem Schluss, dass die erstere ebenso unbequem wie zeitraubend sei und ausserdem wahrscheinlich ein zersetztes Product liefere, letzteres aus dem Grunde, weil man gezwungen sei, zur Zerstörung des Zuckers einen Gährungsprocess einzuleiten. Die Woskresensky'sche Methode erklärt er für praktisch gut ausführbar und ein gutes Präparat liefernd.

Hilger wies nach, dass das Theobromin im Cacao erst secundär durch Zersetzung eines glycosidartigen Körpers hervorgehe.

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin 1881, **14**, 723 ff.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin 1881, **11**, 1689.

3) Piers Trojanowski, Beitrag zur pharmakognostischen und chemischen Kenntniss des Cacao; Inaug.-Dissert. Dorpat 1875.

Quantitative Bestimmung und Trennung der Cacao-Alkaloide.

Allgemeines.

Wenn in der Ueberschrift und im Texte der vorliegenden Arbeit sich des öfteren der Ausdruck »Cacao-Alkaloide« auf Theobromin oder Coffeïn angewendet findet, so muss dazu bemerkt werden, dass nach den neueren Ansichten[1]) diese Bezeichnung weder für das eine noch das andere mehr zutreffend ist, insofern man unter »Alkaloiden« complicirt zusammengesetzte, sich im Pflanzenreich fertig gebildet vorfindende, in chemischer Beziehung zu den Derivaten des Pyridins gehörende Stoffe basischer Natur versteht. Theobromin und Coffeïn sind als Xanthinkörper durchaus von den Alkaloiden im eigentlichen Sinne zu trennen und den Nucleïnen, einer Unterabtheilung der Proteïde, zuzuzählen; indessen bietet es in der That Schwierigkeiten, für beide eine treffende, klare und nicht schwerfällige Bezeichnung zu finden (Cacao-Xanthine?), durch welche sie in ihrer isolirten Stellung charakterisirt und von jenen präcis geschieden werden. Ich glaubte deshalb, den obigen traditionellen Namen beibehalten zu dürfen, da dadurch Missverständnisse am sichersten ausgeschlossen und unbeholfene neue Wortbildungen vermieden werden können.

Die nicht unbeträchtliche Anzahl der in Vorschlag gebrachten Methoden der quantitativen Theobrominbestimmung ist wohl der beste Beweis dafür, dass es zur Zeit noch an einem wirklich einwandfreien, exacten und zuverlässige Resultate liefernden Verfahren gebricht. Fast jeder der Autoren, die sich bislang eingehender mit der chemischen Untersuchung von Cacao und Cacaopräparaten befasst haben, hat ein eigenes Verfahren vorgeschlagen; die Mehrzahl freilich, ohne die Vorzüge desselben einwandfrei zu belegen, begnügten sich damit, die von ihren Vorgängern erhaltenen Zahlen mehr oder weniger richtig zu stellen.

Im Folgenden sollen zunächst die bekannten Methoden der Theobrominbestimmung skizzirt und im Anschluss an eine kurze Kritik der-

---

[1]) Vergl. die Arbeiten von Amé Pictet und Königs über Pflanzenalkaloide.

selben die Grundsätze entwickelt werden, welche für eine rationelle, auch dem praktischen Bedürfniss Rechnung tragende Methode der Alkaloidbestimmung im Cacao maassgebend sein müssen. Im dritten Abschnitt folgt sodann die Schilderung eigener methodischer Versuche, welche zur Lösung der vorhergehend gestellten Aufgabe gemacht wurden.

I. Die bisher gebräuchlichen Methoden der Theobrominbestimmung.

1. Uebersicht.

α. Methode Weigmann.[1])

20 *g* Cacao werden mit heissem Wasser angerieben, $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde gekocht und zum Liter aufgefüllt. Nach dem Absetzen werden 500 *cc* kochend heiss mit Ferriacetat gefällt, filtrirt, das Filtrat durch Abdampfen concentrirt, mit 6 % seines Gewichtes Schwefelsäure sauer gemacht und mit phosphorwolframsaurem Natron gefällt. In dem mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgewaschenen Niederschlag wird der Stickstoff entweder ohne vorhergehendes Trocknen nach Kjeldahl oder nach dem Trocknen nach Will-Varrentrapp bestimmt. Aus dem erhaltenen Stickstoff wird die Menge Theobromin berechnet.

β. Methode Mulder.[1])

10 *g* Cacao werden mit Wasser angerieben, $^1/_4$ Stunde gekocht und mit Magnesiumoxyd zur Trockne eingedampft, die trockne Masse mit Chloroform ausgezogen und letzteres abdestillirt. Der Rückstand wird in heissem Wasser gelöst, die Lösung filtrirt, zur Trockne eingedampft, gewogen, geglüht und wieder gewogen. Die Differenz beider Wägungen entspricht dem vorhandenen Theobromin. — Der Chloroformauszug enthält auch das Theïn oder ein dem Theïn ähnliches Alkaloid, zu dessen Trennung vom Theobromin Weigmann folgende Modification des Mulder'schen Verfahrens vorschlägt: Der mit Magnesiumoxyd gemischte Rückstand wird zuerst mit Benzol extrahirt, worin das Theobromin fast unlöslich ist. Die Benzollösung wird verdampft, der Rückstand mit heissem Wasser durchgeschüttelt, das Filtrat zur Trockne eingedampft und das hinterbleibende als Theïn gewogen.

---

1) Die Vorschrift ist aus König, „Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel", entnommen.

(Auch bei Schmidt-Pressler[1]) wird auf die ungleiche Löslichkeit des Theobromins und Coffeïns in Benzol hingewiesen und die Möglichkeit einer darauf beruhenden Trennung beider erwähnt.)

γ. Methode Wolfram.[2])

10 *g* Cacao oder 20—30 *g* Chocolade werden längere Zeit mit kochendem Wasser behandelt, die Flüssigkeit mit ammoniakalischem Bleiessig in geringem Ueberschuss versetzt, heiss filtrirt und der Niederschlag mit heissem Wasser so lange ausgewaschen, bis das angesäuerte Filtrat mit phosphorwolframsaurem Natron beim Erkalten keine Spur eines Niederschlags mehr gibt. (Das phosphorwolframsaure Natron soll erhalten werden durch Lösen von 100 *g* wolframsaurem Natron und 60—80 *g* phosphorsaurem Natron in 500 *cc* mit Salpetersäure angesäuertem Wasser.) — Das Filtrat, welches bei einem Ueberschuss von ammoniakalischem Bleiessig wasserhell erscheint, wird mit Natronlauge versetzt, bis auf 50 *cc* eingedampft, mit Schwefelsäure stark angesäuert und filtrirt. Aus dem Filtrat wird das Theobromin durch einen grossen Ueberschuss von phosphorwolframsaurem Natron unter Erwärmen und Umrühren gefällt, nach dem Erkalten abfiltrirt und auf dem Filter mit 6—8procentiger Schwefelsäure ausgewaschen. Der ausgewaschene Rückstand wird darauf mit Baryt in der Wärme zersetzt, die Flüssigkeit mit Schwefelsäure vom Ueberschuss des Baryts befreit und mit Baryumcarbonat neutralisirt, heiss filtrirt und der Rückstand mit heissem Wasser ausgewaschen. Die vereinigten, das Theobromin enthaltenden Flüssigkeiten werden in einer Platinschale eingedampft, getrocknet und gewogen. Man glüht darauf, behandelt den geringen, aus Barytsalz bestehenden nicht flüchtigen Rest mit Ammoniumcarbonat, dampft ein, trocknet und wägt abermals. Die Differenz beider Wägungen ergibt die Menge des Theobromins.

δ. Methode Legler.[3])

Im Wesentlichen eine Modification des Wolfram'schen Verfahrens.

20—25 *g* Cacao oder 50 *g* Chocolade werden nach der Entfettung mit 50 *cc* 4—5procentiger Schwefelsäure auf dem Wasserbade einige

[1]) Liebig's Annalen **217**, 287 ff.

[2]) Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie **18**, 346.

[3]) X.—XI. Jahresbericht der Kgl. chem. Centralstelle für öffentl. Gesundheitspflege in Dresden, 1882, S. 33.

Stunden digerirt und aus der abfiltrirten sauren Lösung das Theobromin durch einen Ueberschuss von phosphorwolframsaurem Natron niedergeschlagen. Der Niederschlag ist noch durch Proteïnstoffe verunreinigt und wird zur Entfernung derselben nach 24stündigem Absetzen auf dem Filter mit 8—9procentiger Schwefelsäure ausgewaschen und darauf mit Natriumcarbonat in Lösung gebracht. Die schwach alkalische Lösung wird unter Zusatz von Quarzsand zur Trockne verdampft und mit Amylalkohol auf dem Wasserbade bei 80—90° extrahirt, schliesslich die alkoholische Lösung in einer tarirten Platinschale verdunstet und der Rückstand nach dem Trocknen gewogen. Durch gelindes Glühen und abermaliges Wägen erhält man aus der Differenz die gesuchte Menge Theobromin. Der geringe Rückstand soll aus Chlornatrium bestehen.

ε. Methode Trojanowski.[1])

Eine gewogene Menge Cacaopulver wird durch Behandeln mit Petroläther zum grössten Theil entfettet, mit Glaspulver und Wasser fein zerrieben, mit dem gleichen Gewicht des angewandten Cacaopulvers Magnesiumoxyd gemischt und im Trockenofen bei 60—70° getrocknet. Die trockne Masse wird unter Besprengung mit Weingeist zu feinem Pulver zerrieben, darauf mit 50 *cc* 80procentigem Weingeist am Rückflusskühler eine halbe Stunde ausgekocht und diese Operation noch einmal mit nur 30 *cc* eine Viertelstunde lang wiederholt. Die siedend heiss abfiltrirten Flüssigkeiten werden in einem Becherglase auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand mit Petroläther auf ein tarirtes Filter gebracht und auf diesem so lange mit Weingeist gewaschen, bis derselbe fast farblos wird. Aus dem Gewicht des zum Waschen verbrauchten Weingeistes wird nach dem Verhältniss 1 : 1460 das darin aufgelöste Theobromin berechnet und dieses dem durch abermaliges Wägen des getrockneten Filters erhaltenen hinzu addirt.

ζ. Methode Zipperer.[2])

Die mit Petroläther entfetteten Bohnen werden dreimal je 3 Stunden lang mit 80 % Alkohol extrahirt, die Extracte mit Calciumhydroxyd auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand nach dem Trocknen

[1]) Piers Trojanowski, Beitrag zur pharmakognostischen und chemischen Kenntniss des Cacao; Inaug.-Dissert. Dorpat 1875.

[2]) Dr. Paul Zipperer, Untersuchungen über Cacao und dessen Präparate. Preisgekrönte Schrift. Hamburg-Leipzig 1887, S. 31 ff.

im Soxhlet'schen Apparat drei Stunden mit siedendem Chloroform behandelt. Die nach dem Verdampfen des Chloroforms hinterbleibende Masse wird in siedendem Wasser gelöst, filtrirt und in einer gewogenen Platinschale verdampft. Von der durch Wägung ermittelten Theobrominmenge werden 0,81 % als Wasser abgezogen.

η. Methode Süss.[1])

6 *g* eines innigen Gemisches von gleichen Theilen Cacaobohnen und Quarzsand werden 10 Stunden mit Petroläther extrahirt, mit 200 *cc* destillirtem Wasser und 6 *g* frisch geschlämmtem, chemisch reinen Bleioxyd eine halbe Stunde unter zeitweiligem Umrühren gekocht, colirt, der Rückstand abgepresst und die Flüssigkeit filtrirt. Der Cacaorückstand wird noch zweimal mit je 100 *cc* destillirtem Wasser eine Viertelstunde lang gekocht und wie vorher behandelt. Die fast farblosen Filtrate werden auf 10 *cc* eingedampft und darauf dreimal mit je 100 *cc* Chloroform ausgeschüttelt (drei Minuten lang schütteln). Die Hauptmenge des Chloroforms wird abdestillirt und der Rest im gewogenen Glase verdampft.

ϑ. Methode Diesing.[2])

Die (mit Petroläther) entfetteten Chocoladen werden 4 Stunden lang im Soxhlet'schen Apparat mit Chloroform ausgezogen, der nach dem Verjagen des Chloroforms hinterbleibende Rückstand mehrere Male mit Wasser ausgekocht und diese Lösung mit derjenigen vereinigt, die durch Kochen des betreffenden Fettes mit Wasser erhalten worden war. Die vereinigten Flüssigkeiten werden sodann in eine Platinschale von bekanntem Gewicht filtrirt und der nach dem Verdampfen des Wassers hinterbleibende Rückstand als reines Theobromin gewogen.

ι. Methode James Bell.[3])

10 *g* Cacao werden wiederholt mit heissem Benzol digerirt, das Benzol von den Filtraten abdestillirt, der zurückgebliebene fettige Rückstand mit Wasser gekocht, erkalten gelassen und abfiltrirt. Dieser Pro-

---

[1]) Fresenius, Zeitschrift f. analyt. Chemie **32**, 57 ff.

[2]) Diesing, Beiträge zur Untersuchung von Cacaopräparaten. Inaug.-Dissert. Erlangen 1890.

[3]) James Bell, Analyse und Verfälschung der Nahrungsmittel, übersetzt von Mirus, Berlin 1882, S. 85 u. 86.

cess wird zweimal wiederholt, um die vollständige Extraction des Alkaloids durch Benzol zu erzielen. Das Wasserextract wird dann zur Trockne verdampft und der Rückstand erst durch Lösen in Wasser und dann in Benzol gereinigt. Auf diese Weise wird das dem Theïn ähnliche, in feinen seidenartigen Nadeln krystallisirende Alkaloid erhalten. — Der mit Benzol behandelte Cacao wird mit 10 *g* gebrannter Magnesia, Sand und Wasser zu einem Brei angerieben und die Mischung nach dem Trocknen im Wasserbade wiederholt mit Alkohol von 90 % behandelt. Nach dem Abdestilliren des Alkohols wird der das Theobromin enthaltende Rückstand in ein Gläschen gebracht, getrocknet und gewogen, darauf zur Entfernung der letzten Spuren von Fett und des theïnähnlichen Alkaloids mit heissem Benzol behandelt, letztere abgeschieden (?) und gewogen. Der in Benzol unlösliche Rückstand wird zweimal mit wenig unter + 4,4° abgekühltem Wasser behandelt und so das Theobromin durch Decantation als vollständig reines und weisses Pulver, mit einer Spur unorganischer Substanz vermischt, erhalten. Die letztere wird durch Einäschern bestimmt. Da selbst kaltes Wasser in einigen Fällen (?) etwas von dem Theobromin löst, empfiehlt es sich, das Wasserextract zur Trockne zu verdunsten und, wenn eine geringe Menge Krystalle vorhanden ist, nochmals mit kaltem Wasser zu behandeln (?).

»Wenn der ganze Rückstand, der durch Alkohol aus der Magnesiamischung erhalten wurde, einer Stickstoffbestimmung durch Verbrennen mit Kupferoxyd unterworfen und der gefundene Stickstoff auf Theobromin umgerechnet werden würde, so würde sich ein grösserer und wahrscheinlich auch genauerer Procentgehalt an Alkaloiden ergeben.« (l. c. p. 92.)

2. Kritik der geschilderten Methoden.

Im Allgemeinen ist zunächst anzuführen:

Zu *δ*. Beim Legler'schen Verfahren fehlt die Angabe, womit die Entfettung des Materials zu geschehen habe, obwohl unter Berücksichtigung der Löslichkeitsverhältnisse der Alkaloide die Wahl des Extractionsmittels keineswegs gleichgültig erscheint und auch, wie Diesing gezeigt hat, das Cacaofett in den verschiedenen Lösungsmitteln verschieden löslich ist. Diesing gibt dem Petroläther entschieden den Vorzug vor Aether und Chloroform. Weiter dürfte die Verwendung von Amylalkohol zur Extraction des Theobromins wegen seiner physiologischen Wirkung in der Praxis wenig Beifall finden und

die Forderung seiner Ersetzung durch ein gleichwerthiges, minder unangenehmes Medium durchaus gerechtfertigt sein.

Zu ε. Die Trojanowski'sche Methode birgt insofern eine Fehlerquelle in sich, als man gezwungen ist, zu dem durch directe Wägung erhaltenen Theobromin nach die in die Waschflüssigkeit übergegangene Menge mittels eines Analysenfactors hinzuzurechnen. Abgesehen davon, dass man auf diese Weise ein exactes Resultat überhaupt nicht erwarten darf, ist auch das von Trojanowski ermittelte Löslichkeitsverhältniss des Theobromins in Alkohol unrichtig und wahrscheinlich an einem unreinen Präparat bestimmt. Nach anderen Autoren ist ungefähr das Zehnfache der von Trojanowski zur Lösung von 1 *g* Theobromin angegebenen Alkoholmenge erforderlich, nämlich 1 : 12500, 1 : 16600, nach von mir ausgeführten Bestimmungen 1 : 7100 (Alkohol absol. von 20 ° C.).

Zu ζ. Die von Zipperer gegebene Vorschrift ist leider sehr unklar gefasst. [1]) Es fehlt eine genaue Angabe der anzuwendenden Mengenverhältnisse, und auch sonst finden sich Unklarheiten, welchen ich es zuschreiben muss, dass die bei der Ausführung der Bestimmung von mir erhaltenen Resultate erheblich zu niedrig waren. [2])

Zu η ist nur zu erwähnen, dass Süss auf Grund vergleichender Bestimmungen [3]) zu dem Resultat kommt, dass das Zipperer'sche und Diesing'sche Verfahren zu niedrige Werthe ergeben. Den Grund davon sieht er in der gewählten Art der Extraction des Alkaloids mit Chloroform, zu welchem Zweck er selbst das Ausschütteln der wässrigen Alkaloidlösung mit Chloroform empfiehlt. Die von ihm gefundenen Zahlen übertreffen die nach Zipperer erhaltenen fast um das Doppelte, die nach Diesing fast um die Hälfte.

Nachdem James Bell die Anwesenheit eines zweiten »theïnähnlichen« Alkaloids neben dem Theobromin im Cacao nachgewiesen und auch Trojanowski schon auf diesen Körper, den er wegen Mangels an Material indess nicht näher zu characterisiren vermochte, aufmerksam gemacht hatte, — Trojanowski hatte ihn in Form

[1]) König, Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Bd. I, S. 1020, Anmerkung.

[2]) Vergl. die Tabelle auf S. 19.

[3]) Fresenius, Zeitschrift f. analyt. Chemie **32**, 57 ff.

langer Krystallnadeln erhalten, als er den nach Verdunsten eines alkoholischen Cacaoauszugs hinterbleibenden Rückstand zur Entfernung des mit in Lösung gegangenen Fettes mit Petroläther auszog und die ätherische Lösung verdunsten liess; — nachdem ferner durch die Untersuchungen Schmidt's dieser Körper als mit Coffeïn identisch erkannt worden war, muss es auffallen, dass die Mehrzahl der oben angeführten Methoden die Anwesenheit dieses zweiten Alkoloids einfach übergeht und sich mit der Bestimmung des Theobromins begnügt, oder vielmehr die gewonnenen Resultate ohne weiteres auf Theobromin allein bezieht (z. B. Mulder, Wolfram). Zipperer fordert ausdrücklich vor der Bestimmung des Theobromins die Entfernung des Coffeïns gleichzeitig mit dem Fett durch Petroläther, desshalb scheinen seine Resultate thatsächlich reinem Theobromin zu entsprechen, vorausgesetzt, dass das Coffeïn quantitativ in die ätherische Lösung übergeht. Es bleibt aber auffallend, dass er dasselbe nicht, wie andere, zu bestimmen versucht, sondern ganz unberücksichtigt lässt und seiner Anwesenheit keine weitere Bedeutung beimisst.

Diesing hat zwar bemerkt, dass bei der Entfettung des Cacaos ein Theil der Alkaloide mit entfernt wird, er lässt daher das betreffende Fett mit Wasser auskochen und diese Lösung mit derjenigen der Hauptmenge der Alkaloide wieder vereinigen, übersieht aber, dass es nur das Coffeïn ist, welches in die Fettlösung mit übergeht und spricht daher irrthümlicherweise seinen Alkaloidrückstand als »reines Theobromin« an.

Da Coffeïn ebenso gut wie Theobromin durch phosphorwolframsaures Natron aus saurer Lösung niedergeschlagen wird, der procentische Stickstoffgehalt beider Alkaloide aber nicht der gleiche ist, so muss das Weigmann'sche Verfahren (Berechnung des Theobromins aus dem im Niederschlag gefundenen N) zu unrichtigen Zahlen führen, und zwar muss der Fehler um so grösser sein, je mehr Coffeïn neben Theobromin vorhanden ist.

Bei den Methoden von Legler, Süss und Trojanowski geht das Coffeïn, wie ich weiter unten nachgewiesen habe, zum grössten Theile, unter Umständen vielleicht auch vollständig, bei der Entfettung mit Petroläther in die Fettlösung über und entzieht sich der Bestimmung; der oben gegen das Mulder'sche Verfahren erhobene Vorwurf, die erhaltene Alkaloidmenge ohne weiteres als Theobromin anzusprechen, darf also auf diese Methoden nur mit der Beschränkung ausgedehnt

werden, welche sich aus der Möglichkeit ergibt, dass die Entfernung des Coffeïns je nach der Dauer der Behandlung mit Petroläther eine nur theilweise vollständige sein kann.

Aus dem eben Gesagten geht also hervor, dass durch die Nichtbeachtung der Anwesenheit des Coffeïns neben dem Theobromin

1) die nach den Verfahren von Süss, Trojanowski, Zipperer und Legler für Theobromin gefundenen Zahlen nur bedingungsweise richtig, d. h. auf reines Theobromin bezüglich sind, insofern als ihre Richtigkeit von der Vollständigkeit der Entfernung des Coffeïns beim Entfetten abhängig bleibt;

2) die nach Mulder, Wolfram und Diesing erhaltenen Resultate sich nicht, wie angegeben, auf Theobromin, sondern auf ein Gemisch von Theobromin und Coffeïn beziehen;

3) das Weigmann'sche Verfahren im Princip verworfen werden muss.

4) Dagegen sind die Methode von James Bell und die Weigmann'sche Modification des Mulder'schen Verfahrens in principieller Hinsicht von Wichtigkeit.

Es würde zu Wiederholungen führen, wenn ich schon an dieser Stelle auf die einzelnen Phasen der Bestimmung (Entfettung, Art der Wägung u. s. w.) eingehen würde, ich verweise daher in dieser Beziehung auf den Abschnitt III (Methodik der Alkaloidbestimmung).

3. Vergleichende Zusammenstellung der bei einer Nachprüfung der obigen Methoden erhaltenen eigenen Resultate.[1])

Um direct vergleichbare Werthe zu erhalten, wurden die Bestimmungen in Proben derselben Cacaosorte ausgeführt.

---

[1]) Vergl. die ähnliche Zusammenstellung bei Zipperer, l. c. Seite 29 und Süss l. c. Seite 61.

Lfde. No.	Methode	Angewandt Cacao g	Gefunden g			oder in Procenten			Bemerkungen.
			Gesammt-Alkaloide	Theobromin	Coffein	Gesammt-Alkaloide	Theobromin	Coffein	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Weigmann	10	—	0,0652	—	—	0,652	—	Gefunden N=0,0203 berechnet auf Theobromin! l. Seite 16.
2	Mulder, modif. von Weigmann	10	0,059	0,0475	0,0115	0,59	0,475	0,115	Differenzbestimmung.
3	Wolfram	10	—	0,215	—	—	2,15	—	Differenzbestimmung.
4	Legler	20	—	0,0785	—	—	0,3925	—	Differenzbestimmung.
5	Trojanowski	10	—	0,564	—	—	5,64 (!!)	—	Stark braun gefärbt, schmierig, durch Waschen mit Alkohol nicht zu entfärben.
6	Diesing	10	—	0,124	—	—	1,24	—	Gefärbt, beim Erhitzen stark kohlend.
7	Zipperer	10	—	0,0235	—	—	0,235	—	Nicht völlig farblos!
8	Süss	3	—	0,054	—	—	1,80	—	Schwach gefärbt, wenig Asche.

Die Unterschiede in diesen Resultaten sind auffallend hoch, sie schwanken von 0,235 % (Zipperer) bis 5,64 % (Trojanowski). Was die Bestimmung von Zipperer anbetrifft, so äussert auch Süss (l. c.) schon die Befürchtung, dass bei derselben das Theobromin sich theilweise der lösenden Wirkung des Alkohols entziehen könne. Dasselbe scheint bei Legler der Fall zu sein.

Das Verhältnis der Resultate von Zipperer, Diesing und Süss ist ungefähr dasselbe wie das von dem letzteren selbst gefundene; Süss erhielt nämlich aus 3 *g* Cacaobohnen:

nach Zipperer . . . 0,7—0,8 % Theobromin
« Diesing . . . . 1,0—1,1 « «
« eigenem Verfahren . 1,4—1,46 « «

Die Trojanowski'sche Analyse gibt, wie die Tabelle zeigt, höchst unwahrscheinliche Resultate, wie sie nach den vorstehenden Ausführungen allerdings kaum anders erwartet werden konnten.

II. Aufgabe und Methodik einer rationellen Alkaloidbestimmung.

Die Anforderungen an eine exacte Methodik sind zum Theil schon im voraufgehenden Abschnitt enthalten, doch habe ich versucht, im Folgenden dieselben weiter zu entwickeln und zu präcisiren.

1. Nothwendigkeit, die Menge der Gesammtalkaloide zu ermitteln und darin das Theobromin als quantitativ prävalirenden Bestandtheil zu bestimmen.

Da man also, wie aus dem vorhergehenden Abschnitt erhellt, gezwungen ist, bei der Methodik der Theobrominbestimmung auf die Anwesenheit des Coffeïns entsprechende Rücksicht zu nehmen, so bleibt weiter nichts übrig, als zunächst die Gesammtmenge der Alkaloide zu ermitteln und aus dieser eine der Basen zu isoliren.

Wenn bei der Entfernung des Coffeïns gleichzeitig mit dem Fett durch Extraction mit Petroläther auch nicht zu befürchten ist, dass Theobromin in gelöstem Zustande in die Fettlösung mit übergehen kann, weil es in Petroläther sowohl wie in mit diesem hergestellten Cacao-Fettlösungen sich als unlösbar erwies, so bleibt doch die Möglichkeit bestehen, dass geringe Mengen Theobromin mechanisch bei der Entfettung mit übergerissen worden, worauf auch Süss schon hingewiesen und diesen Hinweis experimentell unterstützt hat.

Der eine Grund für die zu erhebende Forderung der Bestimmung der Gesammtmenge der Alkaloide liegt also in der Schwierigkeit, das Coffeïn zu entfernen, ohne Verluste an Theobromin befürchten zu müssen; dazu kommt noch, dass man keinen Anhaltspunkt besitzt, zu beurtheilen, ob überhaupt bezw. wann bei der Entfettung das Coffeïn vollständig in Lösung gegangen ist.

Ferner aber ist es ein gemeinsamer Fehler aller bisher aufgeführten Methoden, nur das Theobromin zu bestimmen und das Coffeïn unberücksichtigt zu lassen, zumal es sich, was das letztere anbetrifft, nicht um ein Nebenalkaloid von untergeordneter Bedeutung, sondern um einen Körper von hervorragender physiologischer Wichtigkeit handelt, welcher in dieser Hinsicht dem Theobromin um nichts nachzustellen sein dürfte.

Ausserdem sind es ja gerade die Alkaloide, welchen der Cacao, ihrer anregenden Wirkung willen, seine bedeutende Rolle als Genussmittel verdankt, wenn er auch nicht so ausschliesslich, wie zum Beispiel Kaffee oder Thee, nur Genussmittel ist, sondern wegen seines hohen Gehaltes an Proteïnstoffen auch als Nahrungsmittel geschätzt wird. Man ist zwar beim Cacao wie beim Kaffee davon abgekommen, die Qualität einer Handelssorte nach deren Alkaloidgehalt zu bemessen, — Dragendorff fand im feinsten Mokka 0,6 % Coffeïn, in minderwerthigen Sorten dagegen bis zu 2 %, und beim Cacao schwankt (nach Zipperer) die Alkaloidmenge sogar in den einzelnen Bohnen derselben Sorte —, immerhin aber dürfte die Ermittelung desselben für den Analytiker von Wichtigkeit und Interesse bleiben.

An die Bestimmung der Gesammtalkaloide hat sich alsdann als zweite Phase die Trennung derselben anzuschliessen, wobei sich möglicherweise aus dem Verhältniss, in welchem Theobromin und Coffeïn neben einander auftreten, Schlüsse auf die Provenienz einer Handelswaare ergeben können.

2. Einfluss des Cacaofettes auf die Bestimmung.

Der zunächst in Betracht kommende Punkt, der Einfluss, welchen das Cacaofett auf die Bestimmung ausübt, ist im Vorhergehenden schon des öfteren erwähnt worden und kann daher hier kürzer behandelt werden. Zur Entfernung des Fettes schreiben Legler, Trojanowski, Zipperer, Süss, Diesing Petroläther, Bell Benzol vor, Weigmann, Mulder und Wolfram lassen überhaupt nicht entfetten. Petroläther sowohl wie damit hergestellte Cacaofettlösungen nehmen Coffeïn in nicht unbeträchtlicher Menge auf, was ich sowohl durch Digestion gewogener Coffeïnmengen mit Fettlösungen verschiedener Concentration und nachfolgendes Auskochen des nach Verdunsten des Petroläthers hinterbleibenden Fettes mit Wasser, als auch durch Auskochen des aus Cacao direct extrahirten Fettes nachweisen konnte. In beiden Fällen gab der nach Verdampfen des wässrigen Auszuges erhaltene geringe Rückstand sehr deutlich die Murexidreaction. Auf die quantitative Feststellung des Löslichkeitsverhältnisses konnte verzichtet werden, da die blosse Thatsache der Löslichkeit genügte, die Entfettungsoperation mit Petroläther überhaupt zu verwerfen. Was das Verhalten des Theobromins gegeu Petroläther und Lösungen von Cacaofett in diesem betrifft, so hat Süss die Unlöslichkeit desselben in beiden festgestellt,

zugleich aber gefunden, dass geringe Mengen Theobromin in ungelöstem Zustande mechanisch bei der Entfettung übergerissen werden können.

Da ich die Beobachtung gemacht hatte, dass Theobromin sowohl wie Coffeïn mit grosser Leichtigkeit sowohl von Alkalien (Natronlauge, Ammoniak) unter Bildung der entsprechenden Salze aufgenommen werden, und dass diejenigen der fixen Basen sehr gut durch Kohlensäure unter Abscheidung des Alkaloids zerlegbar sind, so glaubte ich auf dieses Verhalten eine Bestimmung derselben eventuell gründen zu können, war aber dadurch gezwungen, um mit Natronlauge extrahiren zu können, zunächst das Fett zu entfernen, da sonst das Alkali unter Seifenbildung gebunden worden wäre. Es handelte sich also darum, ein Lösungsmittel zu finden, welches zwar das Fett, nicht aber die Alkaloide aufzunehmen vermochte. Die in dieser Beziehung mit Aether, Benzol, Xylol, Toluol, Chloroform, Methylalkohol, Benzylalkohol u. s. f. unternommenen Versuche schlugen sämmtlich fehl, da in allen das Coffeïn, theilweise auch Theobromin nicht ganz unlöslich war. Es blieb demnach weiter nichts übrig, als aus Mangel an einem nur das Fett und nicht die Alkaloide aufnehmenden Lösungsmittel die Entfettung überhaupt zu verwerfen, zumal es mir nicht praktisch erschien, in der von Diesing angegebenen Weise das in die ätherische Fettlösung mit übergegangene Alkaloid wieder zu isoliren und mit dem aus dem entfetteten Object gewonnenen zusammen zu bestimmen.

3. Extractions- und Fällungsmethoden.

Die bisherigen Vorschriften zur Theobrominbestimmung lassen sich, was ihre Methodik anbetrifft, auf zwei Principien zurückführen und dementsprechend in zwei Classen eintheilen, von denen die eine als die der Extractionsmethoden, die andere als die der Fällungsmethoden bezeichnet werden darf. Wie diese Bezeichnungen besagen, versuchen die ersteren, die Alkaloide durch ein für dieselben specifisches, die anderen Bestandtheile des Untersuchungsmaterials nicht aufnehmendes Lösungsmittel zu extrahiren oder dieselben eventuell durch geeignete Behandlung, zum Beispiel wiederholte Ueberführung in ein anderes Medium in der zur quantitativen Bestimmung erforderlichen Reinheit zu isoliren; die anderen dagegen schlagen die Alkaloide aus ihrer Lösung neben den anderen Cacaobestandtheilen in Form einer unlöslichen Verbindung nieder, welche dann zur Bestimmung selbst verwendet wird. Principiell lässt sich zwar weder gegen das eine, noch gegen das andere dieser Verfahren

etwas einwenden, in praxi dürften jedoch die Fällungsmethoden den Vorzug vor den Extractionsmethoden, welche an sich zwar directer zum Ziel führen, verdienen, und zwar aus dem Grunde, weil (bisher wenigstens) kein Lösungsmittel bekannt ist, welche aus Cacao nur die Alkaloide und keinen anderen Stoff in Lösung führen kann; zweitens und hauptsächlich aber, weil bei den geringen Quantitäten, mit denen in der Regel gearbeitet werden muss, die Nothwendigkeit der Reinigung und Befreiung des Alkaloids von fremden Bestandtheilen durch Umkrystallisiren oder durch directe Ueberführung in ein anderes Lösungsmittel (Ausschütteln) bei nicht in höchstem Grade exactem Operiren sicher zu Verlusten führt, die das erhaltene Resultat in beträchtlicher Weise beeinflussen.

Immerhin lässt sich die Frage, ob die Extractions- oder Fällungsmethoden den Vorzug verdienen, theoretisch nicht wohl entscheiden; ich habe daher mit beiden Versuche angestellt, auf deren Ergebniss ich später zurückkommen werde.

4. Art der Bestimmung.

Die Art der Bestimmung selbst ist schon aus dem früher Gesagten ableitbar. — Sie kann entweder sein:

1. Bestimmung durch directe Wägung;
2. durch Differenzbestimmung (Glühverlust, Doppelwägung);
3. Bestimmung durch Wägung einer constant zusammengesetzten (Metall-) Verbindung;
4. Bestimmung durch Titration mit scharfer Endreaction.

Die erste Form setzt die absolute Reinheit des Objects voraus, bei der zweiten können etwa vorhandene, nicht flüchtige Bestandtheile ermittelt und in Abzug gebracht werden. Bei No. 3 kommen im Allgemeinen nur die Platinverbindungen in Betracht, weil nur diese sich erfahrungsgemäss durch constante Zusammensetzung auszeichnen und die erhaltenen Resultate leicht durch eine Metallbestimmung (Veraschen) controliren lassen.

Die von L. Barthe vorgeschlagene allgemeine Methode der titrimetrischen Alkaloidbestimmung, welche auf einer ungleichen Farbreaction der Alkaloide gegen Lakmus und Phenolphtaleïn beruht, ist im vorliegenden Falle nicht anwendbar, da das Theobromin ein von dem der übrigen Alkaloide abweichendes Verhalten zeigt.

Die Mehrzahl der besprochenen Methoden schreibt die directe Wägung vor, zwei bestimmen die Alkaloide durch Glühverlust, eine auf indirectem Wege durch Stickstoffbestimmung in dem mit phosphorwolframsaurem Natron erhaltenen Alkaloidniederschlag. Die directe Wägung hat natürlich den grossen Vorzug, dass man den zu bestimmenden Körper thatsächlich in der Hand hat und mit demselben nach Bedürfniss Identitätsreactionen oder Reinheitsprüfungen vornehmen kann; andererseits machen sich die schon erwähnten Schwierigkeiten geltend, einmal die Alkaloide wirklich frei von fremden Beimengungen zu erhalten, zweitens, wenn man sie auf beliebige Weise (Umkrystallisiren etc.) zu reinigen versucht, Verluste auszuschliessen.

Im vorliegenden Falle ist es für die Bestimmung der Gesammtalkaloide bei der geforderten nachfolgenden Trennung derselben ganz selbstverständlich, dass die Bestimmung durch directe Wägung als einzig zulässig angesehen werden muss.

5. Beweis der Zuverlässigkeit des Verfahrens.

In der mir zugänglich gewesenen Litteratur habe ich für die Mehrzahl der im Vorhergehenden besprochenen Methoden den zahlenmässigen Beleg für ihre Exactheit vermisst. Es ist selbstverständlich nicht genügend, wenn der Autor sich damit zufrieden gibt, nach seinem Verfahren höhere Zahlen als nach denen seiner Vorgänger zu finden; es muss vielmehr dargethan werden, dass der Bestimmungsprocess in seiner Gesammtheit durchaus quantitativ verläuft und Verlust- oder Fehlerquellen ausschliesst. Dieser Beweis kann aber nur dadurch erbracht werden, dass Controlversuche mit gewogenen Objectmengen angestellt werden; im vorliegenden Fall zum Beispiel durch Fällung einer bebestimmten Menge Theobromin mit phosphorwolframsaurem Natron, Zerlegung des Niederschlags u. s. f.; die schliesslich gefundene Alkaloidmenge muss dann genau der angewandten entsprechen. Hat sich so eine Reaction als eventuell geeignet zur quantitativen Bestimmung erwiesen, so muss weiter untersucht werden, ob bei der praktischen Ausführung sich durch die vorhandenen fremden, vielleicht störend auf den Gang der Analyse einwirkenden Stoffe weitere Complicationen ergeben. Man wird also einen zweiten Controlversuch unter Verhältnissen anzustellen haben, welche denen der Wirklichkeit möglichst entsprechen. Im vorliegenden Falle glaubte ich in der Art verfahren zu müssen, dass ich nach der zu controlirenden Methode eine Bestimmung ausführte

und einen Parallelversuch mit demselben Quantum Untersuchungsmaterial, dem aber ausserdem eine genau gewogene Menge eines Alkaloidgemisches (Theobromin und Coffeïn) zugesetzt worden war, unter sonst gleichen Bedingungen folgen liess. Die Differenz der beiden Resultate musste dann, wenn die ganze Operation als zuverlässig angesehen werden sollte, der zugesetzten Alkaloidmenge entsprechen. Dadurch würde wenigstens bei Innehaltung bestimmter Versuchsbedingungen die Exactheit der Methode bewiesen sein. Auf diese Versuche wird später zurückgekommen werden.

Die im Vorhergehenden gegebene tabellarische Uebersicht der nach den verschiedenen Methoden mit demselben Untersuchungsobject gewonnenen Resultate lässt vermuthen, dass nicht von allen Autoren dieser Forderung in der nothwendigen Weise Genüge gethan worden ist.

Aus der Zusammenfassung des Bisherigen ergeben sich also folgende Aufgaben, deren Lösung im nächsten Abschnitt versucht werden soll:

I. Die Alkaloidbestimmung im Cacao hat in zwei Phasen zu zerfallen:
   1. Bestimmung der Gesammtalkaloide,
   2. quantitative Trennung derselben (des Theobromins und Coffeïns).

II. Bei der Wahl der Methode ist zu berücksichtigen, dass vorheriges Entfetten des Materials nicht stattfinden darf.

III. Die Gesammtmenge der Alkaloide ist durch directe Wägung zu bestimmen.

IV. Der Bestimmungsprocess ist in seinen wichtigsten Phasen und in seinem Gesammtverlauf bezüglich seiner Exactheit durch Parallelversuche zu controliren.

V. Auch die Trennung der Alkaloide hat möglichst in einer Form zu geschehen, welche die Möglichkeit ihrer späteren Identificirung zulässt.

III. Eigene methodische Versuche.

1. Bestimmung der Gesammtalkaloide.

Trotz der früher gegen das Extractionsverfahren geäusserten Bedenken glaubte ich dennoch wenigstens den Versuch machen zu müssen, mit Hilfe desselben die Bestimmung der Alkaloide auszuführen. Als erstes Lösungsmittel konnte nur Wasser in Betracht kommen; da von

der vorherigen Entfettung des Materials abgesehen werden musste, waren alkoholische Flüssigkeiten und Chloroform ausgeschlossen, um im Interesse der Vermeidung späterer Reinigungsoperationen von vornherein eine möglichste Fernhaltung des Fettes von der Alkaloidlösung zu erzielen. Saure und alkalische Flüssigkeiten waren ebenfalls nicht anwendbar, weil die zu erwartende Bildung des entsprechenden Alkaloidsalzes die spätere Ueberführung in ein anderes Medium verhindern konnte [1]), die letzteren zugleich, um partielle Verseifung des Fettes zu umgehen. Ich beabsichtigte, zunächst die Alkaloide durch kochendes Wasser in Lösung zu bringen, sodann die wässrige Lösung unter Zusatz eines die störenden Beimengungen (Farbstoff, Zucker etc.) zurückhaltenden Bindemittels zur Trockne zu bringen und den Rückstand mit einem geeigneten Extractionsmittel zu erschöpfen. Mit Rücksicht auf die durch die längere Einwirkung stärkerer Basen (zum Beispiel Barytwasser), zumal in der Wärme, eintretende Umwandlung des Coffeïns in Coffeïdin und auf die von Diesing behauptete Zerstörung des Theobromins durch Eindampfen mit Calciumhydroxyd glaubte ich zu dem ersteren Zwecke dem Magnesiumoxyd seiner geringeren Basicität wegen den Vorzug geben zu sollen. Die Diesing'sche Beobachtung ist allerdings und anscheinend mit Recht von Süss angegriffen worden, und auch ich habe gefunden, dass die Zerstörung des Theobromins beim Eindampfen seiner Lösung mit $Ca(OH)_2$ wenigstens keine vollständige sein kann, da aus dem Abdampfrückstand durch Extraction mit Chloroform allerdings Alkaloid wieder erhalten werden konnte; ich muss jedoch darauf verweisen, dass bei einer nach der Vorschrift von Zipperer vergleichsweise ausgeführten Bestimmung [2]) so wenig Theobromin aus dem kalkhaltigen Abdampfrückstand erhalten wurde, dass entweder doch eine partielle Zerstörung desselben oder aber die Verwandlung in eine unlösliche Kalkverbindung anzunehmen war.

Als Extractionsmittel schien mir Chloroform dem Amylalkohol vorzuziehen zu sein.

Ein mit einer gewogenen Menge Theobromins durch Eindampfen und Austrocknen mit Magnesiumhydroxyd und Extraction mit Chloro-

---

[1]) Aus einer alkalischen Lösung von Theobromin konnte ich durch oft wiederholtes Ausschütteln mit Chloroform nur ungefähr den dritten Theil des gelösten Alkaloids wieder ausziehen.

[2]) Vergl. die auf Seite 19 befindliche Tabelle.

form im Soxhlet'schen Apparat angestellter Versuch ergab indess insofern ein negatives Resultat, als es durchaus nicht gelingen wollte, die angewandte Menge Theobromin quantitativ auf dem angegebenen Wege wieder zu gewinnen, wahrscheinlich infolge der Bildung einer nicht löslichen Magnesiumverbindung. Siedendes Chloroform wandte ich der theilweisen Löslichkeit des Magnesiumoxyds wegen nicht an. (Diesing, S. 11.) Ich musste das beabsichtigte Verfahren demnach aufgeben und versuchte weiter nach dem Vorschlag von Süss die Alkaloide aus ihrer Lösung durch Ausschütteln zu isoliren. Hierbei musste aber der Entfernung des Farbstoffs und der anderen störenden Beimengungen, der lösenden Wirkung des Chloroforms wegen, erhöhte Aufmerksamkeit zugewandt werden.

Die nach Süss'schem Modus (Kochen mit geschlämmtem Bleioxyd) erhaltene Alkaloidlösung war nicht völlig farblos, ebensowenig wollte es durch Anwendung von Thierkohle oder basischem Ferriacetat (nach Weigmann) oder neutralem Aluminiumacetat gelingen, die wässrige Cacaoabkochung vollständig zu entfärben. Wohl gelang mir dies aber, als ich dem kochenden, noch nicht filtrirten Cacaoauszug Thierkohle und Aluminiumacetat zugleich zugab, wobei nach fortgesetztem Kochen ein absolut ungefärbtes Filtrat resultirte. In diesem konnten gleichwohl noch Spuren von Gerbstoff durch Eisenchlorid neben grösseren Zuckermengen (durch essigsaures Phenylhydrazin nach Inversion mit verdünnter Schwefelsäure) nachgewiesen werden. Auf Fehling'sche Lösung direct reducirend einwirkende Bestandtheile waren nur in sehr geringer Menge vorhanden. Das Filtrat wurde auf ungefähr 10 *cc* eingedampft und im Scheidetrichter mehrmals mit reichlichen Mengen Chloroform ausgeschüttelt. Der nach dem Verdunsten desselben hinterbleibende Rückstand konnte gleichwohl nicht in der gewünschten Reinheit erhalten werden, da demselben sehr hartnäckig ein brauner schmieriger Stoff anhaftete; dazu kommt noch, dass auch das Aluminiumacetat seinerseits mit dem Theobromin zu reagiren oder dasselbe theilweise aus der Lösung mit dem Farbstoff etc. mit niederzureissen scheint, da es bei einem mit einem gewogenen Quantum Theobromin angestellten Controlversuch nicht gelingen wollte, dasselbe quantitativ wieder zu gewinnen.

Diese Annahme erscheint nach den gemachten Erfahrungen wahrscheinlicher als die von Mitscherlich (l. c. p. 72), welcher angibt, dass das Theobromin theilweise durch die Kohle zurückgehalten werde.

Bei dem Controlversuch wurden 0,0375 *g* Theobromin angewandt; aus dem nach längerem Kochen der Lösung mit Aluminiumacetat und Thierkohle erhaltenen Filtrat konnten durch Ausschütteln mit Chloroform nur 0,0057 *g* wiedergewonnen werden.

Weitere Versuche, die Bestimmung der Gesammtalkaloide durch ein Extractionsverfahren zu bewerkstelligen, wurden nach diesen negativen Resultaten nicht vorgenommen. Ueberdies ist bei diesem Bestimmungsmodus vorauszusetzen, dass die Alkaloide in einer in Wasser löslichen Form im Cacao enthalten sind; sollten dieselben in Form irgend einer Verbindung, zum Beispiel mit Gerbstoff, organischen Basen oder Säuren vorhanden sein, so würde es doch sehr fraglich bleiben, ob durch kochendes Wasser allein ihre vollständige Extraction gelingen könne.

Die Fällungsmethoden bieten dagegen den wesentlichen Vortheil, dass man zur Lösung der Alkaloide sich kräftigerer Angriffsmittel, zum Beispiel verdünnter Säuren, bedienen kann, zumal durch die Anwesenheit von Säuren die Fällung begünstigt wird.

Als für den vorliegenden Zweck geeignete, das heisst Theobromin und Coffeïn gemeinsame Fällungsmittel erwiesen sich Verbindungen der gepaarten Phosphorsäuren, insbesondere phosphorwolframsaures Natron, Phosphorantimonsäure und Phosphormolybdänsäure. Die hiermit erhaltenen Niederschläge wurden durch Alkalien unter Bildung der entsprechenden Alkaloidsalze beziehungsweise freier Abscheidung der Alkaloide zerlegt. In der durch Natronlauge bewirkten klaren Lösung des Niederschlags wurde durch Einleiten von Kohlensäure das Alkaloid in Freiheit gesetzt und die über das Lösungsverhältniss hinaus vorhandene Menge desselben pulverig abgeschieden. Auch durch Eintragen des ausgewaschenen Niederschlags in geschlämmtes Baryumcarbonat konnte des Alkaloid frei gemacht werden.

Die Fällung war eine vollständige, wenigstens konnte in dem durch Eindampfen des neutralisirten Filtrats erhaltenen Rückstand die Murexidreaction nicht mehr hervorgerufen werden. Da jedoch die Möglichkeit offen war, dass dieselbe durch die vorhandene Salzmenge verdeckt wurde, so wurde, um gleichzeitig das zur Wiederabscheidung der Alkaloide beabsichtigte Verfahren, Einleiten von Kohlensäure in die alkalische Lösung des Niederschlags, auf seine Zuverlässigkeit zu controliren, ein genau gewogenes Quantum Theobromin in ungefähr 5procentiger Schwefelsäure gelöst und aus dieser Lösung durch Phosphormolybdän-

säure [1]) niedergeschlagen. Der Niederschlag wurde nach mehrstündigem Absetzen abfiltrirt, in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Kohlensäure behandelt und der nach dem Eindampfen hinterbleibende Rückstand am Rückflusskühler mit Chloroform mehrmals ausgekocht. Das durch Abdestilliren des Chloroforms erhaltene getrocknete Alkaloid war rein weiss, enthielt aber eine minimale Aschenmenge, welche durch Glühen bestimmt wurde; die Gewichtsdifferenz entsprach genau der angewandten Menge Theobromins:

Angewandt Theobromin	0,0605 *g*
Gesammt-Rückstand	0,0608 «
davon Asche	0,0003 «
gefunden Theobromin	0,0605 *g*.

Bei einer Wiederholung des Versuchs wurden

angewandt Theobromin . . . . . 0,053 *g*

und

wiedergefunden Theobromin + Asche 0,054 *g*.

Wurde zur Zerlegung des Niederschlags Barytwasser an Stelle der Natronlauge verwendet, so war das Resultat ein gleich günstiges. Zum Beispiel wurden

angewandt Theobromin	0,119 *g*
wiedergefunden «	0,120 *g*.

Trotz aller Bemühungen wollte es nicht gelingen, ein absolut aschefreies Alkaloid zu erhalten, indessen war der Aschengehalt stets ein so minimaler, dass er wohl vernachlässigt werden konnte. Um vollständig

---

[1]) Die Phosphormolybdänsäure wurde folgendermaassen dargestellt: Molybdänsaures Ammonium wurde durch phosphorsaures Natron gefällt, der (mit salpetersäurehaltigem Wasser, welchem etwas Ammoniummolybdat zugesetzt war) wohl ausgewaschene Niederschlag in Wasser suspendirt und mit Na_2Co_3 bis zur vollständigen Auflösung erwärmt. Die Lösung wurde zur Trockne verdampft und bis zur vollständigen Verjagung der Ammoniumverbindungen geglüht. Der Glührückstand wurde, da die Molybdänsäure theilweise reducirt worden war, fein gepulvert, mit concentrirter Salpetersäure zu einem Brei angerieben, dieser ausgetrocknet und abermals geglüht. Die so erhaltene, fast weisse Salzmasse wurde mit Wasser erwärmt, Salpetersäure bis zur stark sauern Reaction zugefügt und dann soviel Wasser zugegeben, dass aus 1 Theil der trockenen Salzmasse 10 Theile Lösung entstanden. Nach längerem Erhitzen wurde vom ungelösten abfiltrirt und die erhaltene goldgelbe klare Lösung in einem gut schliessenden Gefäss unter möglichstem Schutz vor dem Einfluss ammoniakalischer Dämpfe aufbewahrt.

einwandsfreie Resultate zu erzielen, hat man nur nöthig, einen aliquoten Theil des Gesammt-Alkaloidrückstandes zu einer Aschenbestimmung zu verwenden und die gefundene Menge nach Umrechnung auf das Gesammtgewicht in Abzug zu bringen; doch muss vor der Wägung der Rückstand mit Ammoniumcarbonat behandelt und abermals gelinde erhitzt werden.

Die Fällung mit Phosphormolybdänsäure gibt einen flockigen, rasch sich absetzenden Niederschlag, während der durch phosphorwolframsaures Natron erhaltene viel feiner ausfällt und sich nur schwierig abfiltriren lässt.

Zahlreiche Wiederholungen der obigen Versuche zeigten, dass bei Anwendung von Natronlauge zur Zerlegung des Alkaloidniederschlages die Extraction mit Chloroform wesentlich schneller von statten ging, als bei Anwendung von Barytwasser, dafür fiel aber im letzteren Falle der Aschegehalt durchschnittlich noch geringer aus und war ein so minimaler, dass er wohl vernachlässigt werden dürfte.

Da die Zersetzung des Alkaloidniederschlags auch in der Kälte fast momentan sich vollzieht, glaube ich zu diesem Zweck unbedenklich Barytwasser empfehlen zu können, und eine zerlegende Einwirkung desselben auf Coffeïn (Umwandlung in Coffeïdin) nicht befürchten zu müssen.

Nachdem so die Zuverlässigkeit der Reaction erwiesen worden war, erübrigte noch zu untersuchen, ob bei diesem Verfahren durch die Anwesenheit der anderen Cacaobestandtheile die quantitative Bestimmung der Alkaloide beeinträchtigt wird; denn es wäre leicht denkbar, dass diese Körper (die Proteïne, Farb- und Gerbstoffe etc.), welche mit Phosphormolybdänsäure ebenfalls reagiren, die Exactheit der Methode beeinträchtigen und für die praktische Anwendbarkeit besondere Maassnahmen erforderlich machen könnten.

Den Beweis, dass dies nicht der Fall ist, glaubte ich nur dadurch möglichst einwandsfrei erbringen zu können, dass ich in einem beliebigen Quantum, beispielsweise 10 *g* Cacao, die Alkaloide nach jenem Verfahren bestimmte und gleichzeitig einen Parallelversuch mit derselben Menge derselben Cacaosorte, welcher ein bestimmtes Gewicht Theobromin und Coffeïn zugemischt war, ausführte. Die Differenz der Resultate beider Bestimmungen musste dann der Menge der zugesetzten Alkaloide entsprechen.

Das Ergebniss war folgendes:

I. 10 *g* Cacao gaben . . . 0,1195 *g* Alkaloide

II. 10 *g* Cacao + 0,107 *g* Alkaloidgemisch gaben . . 0,2255 *g* Alkaloide

zugesetzt 0,107 gefunden Differenz 0,106.

Das Verfahren darf demnach Anspruch auf hinlängliche Exactheit erheben.

Die genaue Vorschrift lässt sich folgendermaassen formuliren:

10 *g* Cacao werden mit ca. 150 *cc* 5procentiger Schwefelsäure 20 Minuten lang gekocht, die Flüssigkeit abfiltrirt und der Rückstand gründlich mit kochendem Wasser gewaschen. Darauf wird in der Wärme mit einem grossen Ueberschuss von Phosphormolydänsäure gefällt, nach 24 Stunden abfiltrirt und mit Schwefelsäure von ungefähr 5 % (800—1000 *cc*) ausgewaschen. Filter sammt Niederschlag werden darauf in einem Becherglase noch feucht mit Barytwasser übergossen und in die alkalische Flüssigkeit Kohlensäure bis zur vollständigen Abscheidung des Baryts eingeleitet. Man dampft alsdann auf dem Wasserbad ein, trocknet sorgfältig und bringt den Rückstand in ein Kölbchen, in welchem man ihn mit siedendem Chloroform am Rückflusskühler erschöpft. Die Chloroformlösung wird in ein tarirtes Soxhlet'sches Gläschen, wie solche zur Fettbestimmung üblich sind, filtrirt, auf dem Wasserbade bis zum letzten Tropfen abdestillirt, schliesslich das Kölbchen getrocknet und gewogen.

Das nach diesem Verfahren gewonnene Alkaloidgemisch war stets vollkommen rein weiss, fast aschefrei und gab nach Behandlung mit Chlorwasser und Ammoniak sehr schön die Murexidreaction.

Zipperer fand einen gelbweissen, klebrigen, organischen Körper, welcher dem aus Alkohol- oder Chloroformlösungen gewonnenen Theobromin hartnäckig anhaften sollte. Ich habe denselben nicht, wenigstens nicht in einer solchen Menge finden können, dass er auf die Bestimmung selbst von irgend welchem Einfluss gewesen wäre. Die ammoniakalische Lösung meines Alkaloidrückstandes war schwach opalisirend getrübt, schäumte beim Kochen und liess bei der Trennung der Alkaloide (s. später) die Theobrominsilberverbindung nicht rein weiss, sondern gefärbt fallen. Es ist möglich, dass alles dies auf die Anwesenheit dieses Zipperer'schen oder eines ähnlichen Körpers zurückzuführen ist. Doch wurde dadurch weder die Gesammtbestimmung, noch die Trennung der Alkaloide in irgend einer Weise beeinträchtigt: Weder

war eine Einwirkung auf die Silberlösung zu bemerken (welche sich durch Reduction, das heisst Schwarzfärbung zu erkennen gegeben haben müsste), noch wurde die Wiedergewinnung des Theobromins aus dem Silberniederschlag irgendwie verhindert. Das gefärbte Theobrominsilber löste sich in verdünnter Salpetersäure fast farblos auf und aus der neutralisirten Lösung konnte nach dem Verdampfen durch Ausziehen mit Chloroform absolut reines Theobromin in schönen Krystallen erhalten werden.

Die quantitative Bestimmung der Gesammtmenge der Alkaloide ist also, von dem äusserst geringen Aschengehalt abgesehen, als völlig gelungen zu betrachten.

2. Trennung der Alkaloide.

Die einfachste Trennung des Theobromins vom Coffeïn würde diejenige auf physikalischem Wege, durch ungleiche Löslichkeit in irgend einem Medium sein; zu diesem Zwecke ist von Bell Benzol, von anderen Autoren Petroläther in Vorschlag gebracht und angewandt worden. Im Allgemeinen ist Coffeïn der lösliche, Theobromin der unlösliche Theil. Controlversuche, die ich in dieser Beziehung mit Petroläther und Benzol, sowie eine Reihe anderer Flüssigkeiten (Benzylalkohol. Amylalkohol, Mischungen von Aether und Weingeist in verschiedenen Verhältnissen) anstellte, wollten kein völlig befriedigendes Resultat ergeben, weil entweder Theobromin doch spurenweise löslich war und ich die Einführung eines Löslichkeitsfactors, wie dies zum Beispiel Trojanowski gethan hat, gern vermeiden wollte, oder weil selbst bei nicht nachweisbarer Löslichkeit Schwierigkeiten anderer Art sich in den Weg stellten, so dass ich von dieser Art der Trennung bald absah und sie auf chemischem Wege versuchte.

Es galt daher zunächst, Reactionen aufzufinden, bei welchen nur der eine der beiden in Rede stehenden Körper in quantitativer Weise betheiligt war. Ich fand dabei, dass beide sich gegen die allgemeinen Alkaloidreagentien gleich verhielten, so dass mit diesen ihre Trennung nicht gelingen wollte.

Niederschläge geben: die gepaarten Phosphorsäuren (Phosphorantimonsäure, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure), Kaliumwismutjodid (bei Theobromin energischer wie bei Coffeïn); keine Niederschläge: Jodjodkalium, Gallussäure. Von anderen Reagentien wurden noch versucht:

	Theobromin	Coffeïn
Alkoholisches Schwefelammonium	—	—
Jodsäure	—	—
Jodtrichlorid	—	—
Eisenchlorid	—	—
Eisenchlorür	—	—
Millon'sches Reagens	—	—
Xanthogensaures Kali	—	—
Bleiacetat, basisch	—	—
Bleiacetat, neutral	—	—
Chromsäuregemisch in der Kälte	—	—
Dinatriumphosphat	—	—
Kaliumferrocyanid	—	—
Natriumcarbonat	—	—
Kupfersulfat	—	—
Kupferacetat, basisch	—	—
Quecksilberchlorid	langsam eintretende Trübung.	—
Saur. pyroantimons. Kali	—	—
Picrinsäure (in HCl-Lösung)	allmähliche Krystallabscheidung.	—
Ammoniakal. Silberlösung	bei längerem Kochen krystallinischer Niederschlag.	—

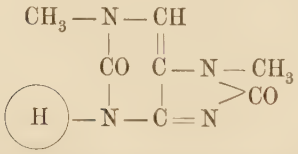
Mit Molybdänschwefelsäure gaben Theobromin und Coffeïn beim Kochen eine dunkelgrüne, nach einiger Zeit spontan indigoblau werdende Flüssigkeit; dasselbe Verhalten zeigten Harnsäure und Harnstoff, sodass man diese Reaction wohl als der ganzen Gruppe zukommend anzusehen hat.

Gemeinsam waren beiden also nur die Reactionen mit den kräftigeren Alkaloidfällungsmitteln, den gepaarten Phosphorsäuren. Die Abscheidung, welche Pikrinsäure in der Theobrominlösung hervorrief, schien aus dem schwerer löslichen Doppelchlorid zu bestehen, welches bei weiterer Untersuchung seiner Löslichkeitsverhältnisse für den angegebenen Zweck sich nicht eignen wollte.

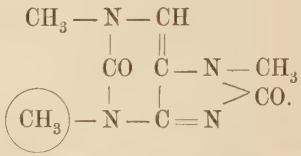
Die Fällungen mit ammoniakalischer Silberlösung und Quecksilberchlorid lassen sich leicht aus der Constitution des Theobromins unter Vergleichung mit derjenigen des Coffeïns erklären: ersteres besitzt ein labiles Wasserstoffatom, welches durch Metall substituirbar ist, wie denn die Silberverbindung des Theobromins thatsächlich bei der Ueberführung

desselben in Coffeïn die Zwischenstufe darstellt, woraus weiterhin folgt, dass durch den Eintritt des Ag-Atoms dasselbe Wasserstoffatom substituirt wird, welches bei seiner Ersetzung durch die CH_3-Gruppe zum Coffeïn führt.

Theobromin:



Coffeïn:



Da diese Metallverbindungen die Möglichkeit einer quantitativen Trennung zu gewähren schienen, so versuchte ich zunächst ausser dem Silber- und Quecksilbersalz noch die entsprechende Kupfer- und Bleiverbindung zu verwerthen; indessen erwiesen sich beide in Wasser gut löslich und deshalb nicht verwendbar, da es mir nicht gelingen wollte, mit Blei- oder Kupfersalzlösungen (neutralem und basischem Bleiacetat, Kupfersulfat, basischem Kupferacetat) Niederschläge zu erzeugen. Da auch die Quecksilberverbindung sich nur sehr langsam und ausserdem in sehr feinem, pulverigem Zustande aus ihrer Lösung abschied, so blieb schliesslich nur das Silbersalz übrig, mit welchem dann auch endlich ein vollständiger Erfolg erzielt wurde.

Eine ammoniakalische Theobrominlösung gab mit Silbernitrat zunächst einen flockigen, weisslichen Niederschlag, welcher alsbald, sehr rasch beim Erwärmen, durch überschüssiges Ammoniak wieder gelöst wurde.

Bei längerem Kochen tritt, sobald dieses entwichen war, eine schnell zunehmende Trübung, schliesslich die Abscheidung eines krystallinischen Körpers ein, in dem ich ein Silbersubstitutionsproduct des Theobromins vermuthete. Er war nicht in Wasser oder verdünntem Alkohol, leicht aber in Ammoniak oder verdünnter Salpetersäure löslich.

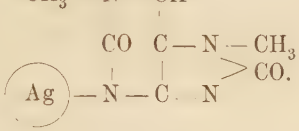
Eine qualitative Analyse ergab die Abwesenheit von Salpetersäure; eine Probe der getrockneten Verbindung wurde in concentrirter Schwefelsäure gelöst und ein Theil der Lösung mit Brucin, ein anderer mit Ferrosulfat geprüft. Der negative Ausfall spricht für ein Substitutionsproduct und nicht für eine molekulare Addition von Theobromin $+ AgNO_3$.

0,2174 *g* der bei 100° getrockneten Substanz ergaben 0,1083 *g* $AgCl = 0{,}0815\ g$ Ag.

Berechnet für $C_7H_7AgN_4O_2$:	gefunden:
37,63 % Ag	37,488 % Ag.

Schmidt[1]) beschreibt ein Silbersalz des Theobromins, welches $1^1/_2$ mol. Krystallwasser enthalten sollte. Das von mir erhaltene Präparat erlitt selbst bei längerem Erhitzen auf 130° keine Gewichtsabnahme, während die Formel $C_7H_7AgN_4O_2 + 1^1/_2 H_2O$ 8,10 % Wasser und nur 34,395 % Ag verlangt.

Die Verbindung muss demnach als ein wasserfreies Substitutionsproduct von der Constitution



aufgefasst werden.

Da Coffeïn selbst bei längerem Kochen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen keine Reaction mit Silbernitrat einging, was durch den Mangel eines der Substitution fähigen Wasserstoffatoms sich erklärt, so schien mir die Silberverbindung des Theobromins in der That zur Trennung der beiden Alkaloide geeignet.

Um zunächst den quantitativen Verlauf des Processes festzustellen, verfuhr ich so, dass ich ein genau gewogenes Quantum Theobromin in ammoniakalischem Wasser löste, zum Kochen erhitzte, Silbernitratlösung hinzufügte und so lange im Sieden erhielt, bis ammoniakalische Dämpfe nicht mehr entwichen und eine Vermehrung der entstandenen weissen krystallinischen Abscheidung nicht mehr stattfand. Darauf wurde diese abfiltrirt, mit kochendem Wasser bis zum Verschwinden der Silberreaction im ablaufenden Waschwasser gewaschen, das Filter getrocknet und im Trockenrückstand durch Glühen das Silber bestimmt. Mehrere anfänglich vergebliche Versuche lehrten, dass ein bedeutender Ueberschuss von Silbernitrat erforderlich ist, und dass das Erhitzen der den Niederschlag enthaltenden Flüssigkeit möglichst weit, bis auf einen Rückstand von wenigen Cubikcentimetern, fortgesetzt werden muss.[2])

Unter Beobachtung dieser Cautelen erhielt ich in der That gute Resultate:

---

[1]) Liebig's Annalen **217**, 282.

[1]) Zur Fällung bediente ich mich stets gefärbter Bechergläser, um nach Möglichkeit einer Reduction der Silberlösung vorzubeugen.

1.	0,1195	Theobr.	ergaben	0,0723	Ag,	entspr.	0,1200	Theobr.
2.	0,1570	«	«	0,0942	«	«	0,1564	«
3.	0,1432	«	«	0,0870	«	«	0,1444	«
4.	0,2394	«	«	0,1435	«	«	0,2382	«
5.	0,1165	«	«	0,0698	«	«	0,1159	«
6.	0,1240	«	«	0,0742	«	«	0,1232	«

Aus dem gefundenen Ag erhält man durch Multiplication mit 1,66 direct die entspechende Menge Theobromin (108 Ag = 180 Theobromin).

Ebenso günstig war das Ergebniss, als ich an Stelle reinen Theobromins mit einem Gemisch von Theobromin und Coffeïn operirte:

1.	0,1075	Theobromin [1])	ergaben	0,0645	Ag =	0,1071 Theobromin.
2.	0,0862	«	«	0,0517	« =	0,0858 «
3.	0,0911	«	«	0,0543	« =	0,0901 «
4.	0,0792	«	«	0,0479	« =	0,0795 «

Nachdem die Silberreaction sich als durchaus brauchbar und zuverlässig erwiesen hatte, kam es noch darauf an, das Verfahren derart zu modificiren, dass die Trennung möglichst rasch und ohne Zerstörung des abgeschiedenen Theobromins durchgeführt werden konnte.

Einige Bestimmungen, bei denen ich das erhaltene Theobrominsilber auf einem gewogenen Filter sammelte und direct zur Wägung brachte, sowie andere, bei denen der Niederschlag nach dem Auswaschen in verdünnter Salpetersäure gelöst, das Silber als Chlorid ausgefällt und als solches gewogen wurde, gaben, wie zu erwarten, quantitative Resultate und gestatteten zugleich, das Theobromin durch geeignete Behandlung (Ausziehen mit Chloroform) in fast quantitativer Menge wiederzugewinnen; sie waren aber noch zu umständlich und zeitraubend, und ich versuchte daher, die von Volhard angegebene titrimetrische Silberbestimmungsmethode mittelst Rhodanammonium in der Weise zu benutzen, dass ich zu der Alkaloidlösung ein gemessenes Volum einer Silbernitratlösung von genau bekanntem Gehalt zusetzte und nach beendeter Fällung im Filtrat und Waschwasser das gelöst gebliebene Silber mittelst der Rhodanlösung, deren Wirkungswerth gegen die Silberlösung vorher genau festgestellt war, titrirte. Die Silberlösung enthielt 5 *g* $AgNO_3$ in 100 *cc*, folglich 1 *cc* = 0,03176 Ag; 14,7 *cc* Rhodanlösung $\left(\frac{n}{10}\right)$ = 5 *cc* obiger Silberlösung = 0,1588 Ag, 1 *cc* = 0,0108 Ag.

[1]) plus ungefähr ebensoviel Coffeïn.

Die Titration wurde in dem erkalteten Filtrat, nach Zusatz von circa 5 *cc* kalt gesättigter Ferriammoniumsulfatlösung als Indicator und ausgekochter Salpetersäure bis zur Entfärbung, ausgeführt.

Auch hier fielen die Ergebnisse ebenso günstig wie bei den vorhergehenden Versuchen aus und wurden durch gleichzeitige Anwesenheit von Coffeïn in keiner Weise beeinflusst.

1. 0,2394 Theobr. + 10 *cc* $AgNO_3$ = 0,3176 Ag
   verbraucht 16 *cc* NH_4CNS = 0,1728 Ag
   an Theobromin = 0,1448 Ag = 0,2404 Theobr.
2. 0,2405 Theobr. + 15 *cc* $AgNO_3$ = 0,4764 Ag
   verbraucht 30,7 *cc* NH_4CNS = 0,3316 Ag
   an Theobromin = 0,1448 Ag = 0,2404 Theobr.
3. 0,0792 Theobr.[1]) + 10 *cc* $AgNO_3$ = 0,3176 Ag
   verbraucht 25 *cc* NH_4CNS = 0,2700 Ag
   an Theobromin = 0,0476 Ag = 0,0790 Theobr.
4. 0,0868 Theobr.[1]) + 10 *cc* $AgNO_3$ = 0,3176 Ag
   verbraucht 24,6 *cc* NH_4CNS = 0,2657 Ag
   an Theobromin = 0,0519 Ag = 0,0862 Theobr.
5. 0,1135 Theobr.[1]) + 10 *cc* $AgNO_3$ = 0,3176 Ag
   verbraucht 23,1 *cc* NH_4CNS = 0,2495 Ag
   an Theobromin = 0,0681 Ag = 0,1130 Theobr

Die Titrationsmethode gestattet, mehrere Trennungen bequem in einer Stunde auszuführen. Sie besitzt ausserdem den Vorzug, dass sowohl Theobromin wie Coffeïn, wenn nöthig, zur Vornahme weiterer Reactionen rein gewonnen werden können. Zu dem Zweck wird das Theobrominsilber in verdünnter Salpetersäure gelöst, die Lösung neutralisirt und eingedampft; die coffeïnhaltige Flüssigkeit, in welcher die Titration ausgeführt wurde, wird ebenfalls neutralisirt und zur Trockne gebracht; aus den trockenen Rückständen können die Alkaloide leicht durch Chloroform ausgezogen werden.

Auch die Trennung der Alkaloide ist nach dem Vorstehenden als vollständig gelungen zu betrachten.

---

[1]) plus ungefähr ebensoviel Coffeïn.

Für die am Schlusse des II. Abschnittes gestellten Aufgaben glaube ich demnach folgende Lösung gefunden zu haben:

I. Die Bestimmung der Gesammtalkaloide geschieht zweckmässig durch Fällung mit Phosphormolybdänsäure aus ihrer schwefelsauren Lösung. Der Niederschlag wird durch Barytwasser zersetzt, die Flüssigkeit mit Kohlensäure behandelt, eingedampft und die Alkaloide aus dem trockenen Rückstand mit siedendem Chloroform ausgezogen.

II. Die Trennung der Alkaloide kann mit Hilfe des Theobrominsilbers gewichtsanalytisch oder titrimetrisch bequem und sehr genau ausgeführt werden.

III. Das Verfahren bietet den Vortheil, nach beendeter Bestimmung mit den wieder isolirten Alkaloiden Reinheits- und Identitätsreactionen vornehmen zu können.

VI. Die Bestimmung ist einfach und leicht durchführbar und gibt exactere Resultate, als die bisher publicirten Methoden.

Der Verfasser hat im Vorstehenden den Versuch unternommen, ein schon öfters erörtertes Thema vom Standpunkte des Chemikers aus zur endgiltigen Erledigung zu bringen. Er täuscht sich nicht darüber, dass das Ergebniss seiner Untersuchungen eine Umwandlung der über die handelstechnische Bewerthung des Cacaos und seiner Präparate zur Zeit giltigen Anschauungen aus den im Text der vorstehenden Arbeit angegebenen Gründen nicht herbeiführen wird. Er hofft aber, zu einem alten Thema einen dem Analytiker in der Praxis vielleicht nicht unwillkommenen Beitrag geliefert zu haben, und schliesst in dieser Hoffnung den vorliegenden Versuch mit der Bitte um wohlwollende Aufnahme.

Berlin, April 1893.

Druck von Carl Ritter in Wiesbaden.